Instruction Manual – Bedienungsanleitung

PerfectBlue™
Horizontal Mini Gel Systems / Horizontale Minigelsysteme

Mini S, M, L & Mini L 'Revolution'





Creating the future together.

CONTENTS

WARRANTY 2

PACKAGING LIST 2

SAFETY PRECAUTIONS 2

SYSTEM OVERVIEW 3

Technical properties 3

GENERAL INSTRUCTIONS 4

Setting up the system and pouring the agarose gel 4
Loading of samples and electrophoresis 5
Visualisation 5
Cleaning 6

REQUIRED REAGENTS & RECIPES 7

Electrophoresis buffers 7
Agarose: Gel volumes and percentage 8
Ethidium bromide 8
Loading buffer/Sample buffer 9
Molecular weight marker 9

TROUBLESHOOTING 9

TECHNICAL SUPPORT AND ORDERING INFORMATION 11

PerfectBlue™ Mini S 11
PerfectBlue™ Mini M 11
PerfectBlue™ Mini L & Mini L 'Revolution' 12
JustCast adjustable casting chamber 12
Power Supplies 13
Agaroses 13

LITERATURE 14

WARRANTY

PEQLAB guarantees that the horizontal electrophoresis system you have received has been thoroughly tested and meets its published specification.

However, immediately upon arrival, please check carefully that the shipment is complete and has not been damaged in transit. For missing parts or to report any kind of damage, please contact PEQLAB (see 'TECHNICAL SUPPORT AND ORDERING INFORMATION'). Please retain all packaging materials until the delivery has been completely checked since this will speed up the return of goods if required and reduce environmental impact. Any form of returns, replacements or credit notes must be agreed in advance by PEQLAB.

For the complete range of PerfectBlue™ electrophoresis and blotting systems, PEQLAB guarantees a warranty period of 36 months if the products have been used solely according to the instruction manual unless a different warranty has been offered in writing. No liability is accepted for loss or damage arising from incorrect use. PEQLAB's liability is limited to the repair or replacement of the unit or refund of the purchase price, at PEQLAB's discretion. PEQLAB is not liable for any consequential damages. After the warranty period has expired, PEQLAB can offer repairs.

PEQLAB reserves the right to alter the technical specifications of the PerfectBlue™ electrophoresis or blotting systems without prior notice. This will enable us to implement developments as soon as they arise.

PACKAGING LIST

Unless requested otherwise, the following items are included in shipment for the models PerfectBlue™ Mini S, Mini M, Mini L and Mini L 'Revolution':

- one buffer chamber with corrosion-protected platinum electrodes
- one safety lid with attached power cords
- one UV-transmissible gel tray with gaskets
- Mini S: 2 combs,1.5 mm thick, 6 and 10 teeth
- Mini M: 2 combs, 1.5 mm thick, 10 and 14 teeth
- Mini L ('Revolution'): 2 combs, 1.5 mm thick, 12 and 20 teeth
- User Manual

SAFETY PRECAUTIONS

- Please, read this Instruction Manual carefully before using the gel system.
- Only use a CE marked DC power supply.
- Always disconnect the gel system from the power supply before removing the safety lid.
- Always disconnect the gel system from the power supply when it is not in use or before moving it.
- Running conditions for this unit should not exceed the maximum operating voltage or current.
- Do not fill the chamber with running buffer above the maximum fill line.
- The buffer ascending tube at the lower side of the Mini L 'Revolution' gel chamber may not be used as a carry handle as it does not resist mechanical forces in perpetuity.

SYSTEM OVERVIEW

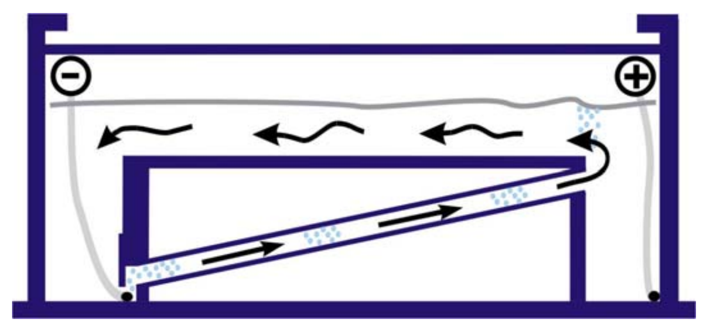
The horizontal electrophoresis systems PerfectBlue™ Mini S, M, L and Mini L 'Revolution' have been designed as 'all-in-one' systems that make it possible to cast and run gels in the same chamber. The user does not need any additional casting equipment such as grease, agarose seals or other accessories to seal the gel tray for pouring the gel.

All PerfectBlue™ horizontal Mini Gel Systems include a UV-transmissible gel tray, which has the minimum of two comb positions, allowing the user to run two sets of samples for equal distances simultaneously and a fluorescent ruler that helps in the precise photo documentation of each gel run.

In total PEQLAB offers 6 different Mini Gel Systems. In addition to the Mini S, M, L and L 'Revolution' models that are described here, two wide-format Mini Gel Systems are available (Mini ExM and Mini ExW). A comprehensive range of accessories is available for this range. These include stand-alone casting chambers for pouring up to 3 gels simultaneously while the chamber is in use, the adjustable casting chamber JustCast, a wide variety of standard combs, microtiter combs (not available for Mini S), preparative combs and wall combs that allow you to cast shorter gels in a standard gel tray. Microtiter combs allow you time-saving loading of the gels via a multi channel pipette.

For detailed information on available accessories visit www.peqlab.com or see 'TECHNICAL SUPPORT AND ORDERING INFORMATION'.

In contrast with all the other Mini Gel Systems, the Mini L 'Revolution' model is equipped with an internal buffer recirculation system. A trapping system captures hydrogen bubbles which are produced at the cathode due to electrolysis, and directs them through an ascending tube to the opposing side of the buffer chamber where the anode is located. During this hydrogen bubble migration, the buffer circulates, preventing the creation of detrimental pH or ion gradients.



Schematic drawing: 'Revolution'-Technology

Technical properties

PerfectBlue™	Cat. No.	Gel size (W x L)	Buffer volume	Voltage	Current	Time required
Mini S	40-0708	7 x 8 cm	400 ml	20 - 150 V	1 - 75 mA	30 - 60 min
Mini M	40-0911	9 x 11 cm	600 ml	20 - 150 V	1 - 75 mA	45 - 90 min
Mini L	40-1214	12 x 14 cm	800 ml	20 - 150 V	1 - 75 mA	60 - 120 min
Mini L 'Revolution'	40-1214R	12 x 14 cm	1000 ml	20 - 150 V	1 - 75 mA	60 - 240 min

GENERAL INSTRUCTIONS

Setting up the system and pouring the agarose gel

1. Remove the lid from the gel box by holding the front of the buffer chamber with one hand and pulling the lid off by holding the center of the back of the lid.

2. For shipping and convenient storage, the gel tray is packaged inside the unit upon arrival. This is also the correct 90 ° tray position for casting a gel. To remove the gel tray, hold the unit firmly with one hand; grasp the long sides of the UVT gel tray and pull up slowly at an angle. The tray needs to fit snug for leak proof gel casting, so it may seem somewhat tight. 'Walking' the tray upwards at an angle may be helpful.

3. To cast a gel, place the gel tray into the chamber so that the gasketed ends press against the walls of the buffer chamber. Make sure the gel tray is pressed all the way down and rests level on the unit's platform. Moistening the rubber gaskets of the gel tray may facilitate the placement into the chamber. Similarly the gel trays can be sealed in optional casting chambers.

   Optional: The wall comb available for Mini L and Mini L 'Revolution' allows you to sub-divide the gel tray in order to cast shorter gels. The wall comb should be sealed with 2 % agarose before pouring the gel.

4. Use electrophoresis-grade agarose and compatible electrophoresis buffer to prepare the gel. The percentage of agarose and the buffer to be used is determined by the size of the samples to be separated and further recovery of the samples (see 'REQUIRED REAGENTS & RECIPES'). The agarose and buffer are mixed and heated over a heat plate by stirring or in a microwave oven until the agarose is completely dissolved.

5. The prepared gel must then be cooled to below 60 °C before casting to avoid warping the UVT gel tray due to excessive heat. If numerous gels are to be run in one day, a large volume of gel may be prepared and be placed in a covered bottle stored between 40 - 60 °C in a water bath.

6. Pour or pipette the correct amount (see 'Agarose: Gel volumes and percentage') of warm agarose (< 60 °C) onto the UVT gel tray that has been placed into the casting position in the gel box. Immediately after pouring, insert the desired comb or combs into the comb slots to form the sample wells. Standard agarose should solidify completely in about 30 minutes. If low melting point or a specialty agarose is used, consult the instructions that came with the product.

Loading of samples and electrophoresis

1. Once the gel is completely solidified, lift the tray out of the chamber, turn it 90 °, and replace it in the chamber with the first comb closest to the cathode side (black electrode) of the chamber. The running position exposes the open ends of the agarose to the buffer.

2. Pour enough compatible running buffer into the unit to fill chamber and completely cover and submerge the gel. A 'Fill Line' is located on each unit to clearly mark the correct buffer level. See 'Technical properties' for approximate buffer volumes needed for your unit. Too little buffer may cause the gel to dry out during the run, while excess buffer may slow DNA migration in the gel, increase heat build-up and cause distorted bands.

3. Carefully remove the comb (or combs) by tapping lightly to loosen, and slowly lift straight up out of the gel tray to avoid damage to the wells.

4. Load prepared samples into the wells. Samples should be mixed with a sample loading buffer (giving weight to the samples so that they drop evenly into the wells), and contain tracking dye to monitor the gel run. For details on approximate well volumes see 'TECHNICAL SUPPORT & ORDERING INFORMATION'. If Microtiter combs have been used, wells can be loaded by a multi channel pipette. Wells that have been cast with microtiter combs of 26 teeth or less can be loaded 'directly', i.e. the pipette tips fit sequentially into the gel wells.

   NOTE: It is wise to always run a sample lane of a known 'standard ladder' to determine concentration and size of separated fragments after the gel run, and to aid in photo documentation and analysis.

5. Carefully slide the lid with attached power cords onto the unit. This will connect the power cords to the banana plugs to complete the circuit. Plug the other end of the cords (4 mm, male) into an appropriate power supply.

   Take care to the proper orientation of the electrical field. Remember that nucleic acids are negatively charged in an alkaline to neutral surrounding and therefore will migrate to the positively charged anode. In general, the color coding for positively charged electrodes is red.

6. Turn on the power supply and run the gel at the appropriate voltage/current (see 'Technical properties'). You can observe the progress of electrophoresis by the visual migration of the loading dye. Note that in 0.5 x TBE gels bromophenol blue co-migrates at 300 bp and xylene cyanol at 4 kbp with the DNA fragments.

Visualization

When the tracking dye has migrated as far through the gel as desired, or to the end of the gel, turn off the power supply and slide off the lid to disconnect from the power source. Carefully remove the tray containing the gel (wear gloves). The UV-transmissible gel tray makes for simple visualization and photography with a UV light source without the need to remove the gel from the tray. The gel tray may be placed back into the casting chamber for convenient transport to the darkroom and to avoid damage to the gel.

Cleaning

The buffer chamber and tray should be rinsed under warm running water after each use. Use a mild detergent to get rid of any debris. A following short rinse off with distilled water prevents the formation of salt marks. It is recommended to allow the chamber to air dry rather than drying with a towel to avoid damage to the electrode wires.

Do not use ethanol or other organic solvents to clean acrylic products, because organic solvents cause acrylic to 'craze' or crack!

REQUIRED REAGENTS & RECIPES

Electrophoresis buffers

Electrophoresis buffers supply the ions necessary for electrophoresis and establishing a certain pH value in which the target molecule adapts to the required electric charge. Nucleic acids will be negatively charged in an alkaline to neutral surrounding. Additionally, electrophoresis buffers often contain reagents which protect the target molecule from degradation (e.g. EDTA, which complexes bivalent cations and therefore inhibits DNases). If electrophoresis under denaturing conditions is desired (like for the electrophoresis of RNA), electrophoresis buffers will additionally contain reagents that eliminate the formation of secondary structures. You will find recipes below for TAE and TBE, two of the most commonly used buffers for the electrophoresis of DNA. If the intention is to eventually isolate DNA from the gel, TAE buffer should be chosen. In comparison to TBE, migration will be faster and a better resolution of supercoiled DNA will be achieved when using TAE. However, because of TAE's limited buffering capacity, TBE should be selected for performing extended electrophoresis separations and if the electrophoresis chamber does not possess a system for buffer recirculation. PEQLAB's PerfectBlue 'Revolution' Systems are equipped with an internal buffer recirculation system that prevents the formation of pH and ion gradients during extended runs. Since agarose tends to create finer pore sizes and a more solid matrix in TBE, diffusion of DNA will be reduced and a more discrete band pattern will be achieved.

TAE (Tris-Acetate-EDTA) Buffer

1 x working solution: 40 mM Tris-acetate, 1 mM EDTA

50 x stock solution (1 L):
242 g Tris-Base
57.1 ml Glacial acetic acid
100 ml 0.5 M EDTA (pH 8.0)
Adjust volume to 1L using distilled H_2O

TBE (Tris-Borate-EDTA) Buffer

0.5 x working solution*: 45 mM Tris-Borate, 1 mM EDTA

5 x stock solution (1 L)**:
54 g Tris-Base
27.5 g Boric acid
20 ml 0.5 M EDTA (pH 8.0)
Adjust volume to 1L using distilled H_2O

* 0.5 x TBE is sufficient for agarose gel electrophoresis. For vertical electrophoresis in polyacrylamide gels, 1 x TBE is often applied due to the comparatively smaller buffer reservoirs of vertical electrophoresis chambers.

** 5 x TBE stock solutions tend to precipitate during long storage periods and should get remade. Because of this property, higher concentrations of TBE stock solutions should be avoided.

Agarose: Gel volumes and percentage

PEQLAB offers an extensive range of high quality agaroses, for many specific applications (see 'TECHNICAL SUPPORT AND ORDERING INFORMATION').

The required volume of the gel is calculated using the following formula.

gel width (cm) x gel length (cm) x gel thickness (cm) = required volume agarose solution (ml)

The following volumes will result:

Model	**Gel size (cm)**	**Gel thickness (cm)**			
		0.25	**0.5**	**0.75**	**1.0**
PerfectBlue Mini S	7 x 8 (W x L)	14 ml	28 ml	42 ml	56 ml
PerfectBlue Mini M	9 x 11 (W x L)	25 ml	50 ml	75 ml	100 ml
PerfectBlue Mini L ('Revolution')	12 x 14 (W x L)	42 ml	84 ml	126 ml	168 ml

The optimal range of DNA fragment sizes separated by any electrophoresis experiment is dependent on the agarose concentration of the gel. The higher the agarose concentration, the better small fragments are separated from each other and vice versa. However, for the smallest or largest fragment lengths, the usage of specialized agaroses or polyacrylamide gels should be considered (see table below) since a 3 % agarose solution solidifies rapidly and a 0.3 % agarose gel is very soft and difficult to handle.

Agarose content (w/v)	**Agarose (g)**	**Buffer (ml)**	**optimal separation range (kb)**
0.3 %	0.3	100	5 - 30
0.5 %	0.5	100	1 - 15
0.7 %	0.7	100	0.8 - 10
1.0 %	1.0	100	0.5 - 7
1.2 %	1.2	100	0.3 - 6
1.5 %	1.5	100	0.2 - 4
2.0 %	2.0	100	0.1 - 3
3.0 %	3.0	100	< 0.1

Ethidium bromide

The gel may be stained during or following the run with a variety of stains for photo documentation. The most common stain for DNA is ethidium bromide. Because of its capacity to intercalate into double stranded nucleic acids and alter the conformation of DNA, ethidium bromide is judged to be highly mutagenic. Therefore appropriate safety measures must be applied.
Ethidium bromide may be added directly to the gel before pouring it at a concentration of 0.1 to 0.5 µg/ml. However, being positively charged, ethidium bromide will migrate to the cathode during the electrophoresis leading to uneven staining. Improved results can be obtained by incubating the gel after the electrophoresis is finished in electrophoresis buffer containing 0.5 µg/ml ethidium bromide for 5 to 20 min. Subsequently the gel should get rinsed in electrophoresis buffer without ethidium bromide for up to 20 min in order to reduce background signal.

Loading buffer/Sample buffer

Samples are prepared and mixed with loading buffer before applying to the prepared gel. Sample buffers contain dyes for visibility and glycerol to provide weight to the samples. This increased sample density ensures samples load evenly into the wells and do not float out during loading. Dyes also migrate toward the anode end of the electrophoresis chamber at predictable rates allowing the gel run to be monitored. In 0.5 x TBE gels, bromophenol blue migrates at the same rate as 300 bp DNA fragments and xylene cyanol approximately at the same rate as 4 kbp DNA fragments.

6 x DNA sample buffer:	0.25 % (w/v) bromophenol blue
	0.25 % (w/v) xylene cyanol FF
	30 % (v/v) glycerol

Molecular weight marker

Markers are run on each gel to monitor the quality of sample separation and to enable a size estimation of specific bands. By running a known marker of a specific concentration in parallel, the DNA amount of the unknown samples can be estimated. PEQLAB offers an extensive range of DNA and RNA markers. For detailed information please contact us or visit www.peqlab.com.

TROUBLESHOOTING

Some possible solutions to potential problems are listed below. If these suggestions are unclear or unsuccessful, please contact PEQLAB-Service-Team (TECHNICAL SUPPORT & ORDERING INFORMATION).

Problem: Agarose leaks into chamber when pouring gel
Check to see if the gasket is firmly seated in the grooves on the ends of the UVT gel tray. Reseat gasket if necessary by removing and rinsing under warm running water, then reseat evenly in the tray groove.

Problem: Bands appear diffused in the gel or bands seem to be running at an angle (Gel smiling).
Check to be sure the casting is being done on a level surface. Also confirm that the gel tray is inserted all the way into the unit and rests on the platform for level gel casting. The voltage may be too high. Try lowering the voltage setting on the power supply. Electrophoresis buffer may have been prepared with wrong or expired chemicals. Perhaps no electrophoresis buffer has been used for preparing the gel solution. Check if the stock solution of the electrophoresis buffer was diluted correctly for the preparation of the working solution.

Problem: Samples seem to be running unevenly in certain areas.
Check that the platinum electrode wire is intact and running evenly across the base of the chamber and up the side to the junction of the banana plug. The unit should produce small bubbles as the current passes through. If there appears to be a break in the electrode connection, contact PEQLAB immediately. This problem may also be caused by regularly casting with very hot agarose gel (> 60 °C). Always cool the melted agarose to below 60 °C before casting to avoid warping the UVT gel tray. Warping the gel tray will cause all subsequent gels to be cast unevenly and hence cause bad electrophoretic separation.

Problem: Samples do not band sharply.

Gels should be allowed to solidify completely before running. Standard agarose should solidify in about 30 minutes. If low melting point agarose is used, it may be necessary to completely solidify gels at a cooler temperature in the refrigerator or cold room. Gels should be submerged in 3 - 5 mm of buffer to prevent the gel from drying out, but excess buffer (> 5 mm) can cause decreased DNA mobility and band distortion. Perhaps too much nucleic acid was applied to the wells potentially leading to 'smearing' of the bands.

Problem: Samples are remaining in the wells, running 'backwards' or diffusing out of the gel.

Check that a complete power circuit is achieved between the unit and the power supply. Platinum wire and banana plugs should be intact. To test, simply fill the unit with running buffer and attach to the power supply without a gel or gel tray in the unit. The platinum wires on both sides of the unit should produce small bubbles as the current passes through. If a complete circuit does not exist there will be little to no bubbles. If samples appear to run backwards through the gel or there are no bands visible, check to be sure that the gel tray was placed in the electrophoresis chamber in the proper orientation. If the orientation or polarity is reversed, the samples will run backwards or migrate off the gel. The tray should be placed in the chamber with the comb at the edge of the tray closest to the cathode side (black) of the chamber.

Problem: When the comb is removed from the gel the sample well is ripped and damaged.

Always make sure to allow the gel to solidify completely and note that the gel should be submerged by running buffer before moving the tray, unit, or removing the comb. To avoid damage to the sample wells, gently rock the comb back and forth lightly to loosen and then slowly pull the comb straight up out of the gel tray. This rocking helps to avoid suction as the comb is removed.

Problem: The gel seems to run slower under the usual running conditions.

The volume of running buffer used to submerge the gel should only be between 3 - 5 mm over the gel surface. Gel should be completely submerged to avoid the gel from drying out and to assure that a uniform electrical field can be generated. However, if excessive running buffer is used, the current flow through the gel and the migration of the DNA is decreased.

TECHNICAL SUPPORT AND ORDERING INFORMATION

For technical questions and more detailed information on PEQLAB's products please visit www.peqlab.com to find the respective contact person.

PerfectBlue™ Mini S

Item	Description			Cat. No.
Gel system Mini S	complete system for gels 7 x 8 cm (W x L)			40-0708
Casting chamber	Casting chamber for up to 3 gel trays			40-0708-CST
Gel tray	UV-transmissible gel tray and gaskets			40-0708-UVT
MultiCast Casting chamber	Casting chamber and 3 UV-transmissible gel trays			40-0708-MC
Gaskets	2 rubber gaskets for gel tray			40-0708-GK
Standard combs	1.5 mm	5 teeth	64 µl*	40-0708-5D
	1.5 mm	6 teeth	51 µl*	40-0708-6D
	1.5 mm	8 teeth	36 µl*	40-0708-8D
	1.5 mm	10 teeth	26 µl*	40-0708-10D
	1.5 mm	12 teeth	21 µl*	40-0708-12D
	1.0 mm	5 teeth	42 µl*	40-0708-5C
	1.0 mm	6 teeth	34 µl*	40-0708-6C
	1.0 mm	8 teeth	24 µl*	40-0708-8C
	1.0 mm	10 teeth	18 µl*	40-0708-10C
	1.0 mm	12 teeth	14 µl*	40-0708-12C
Preparative comb	1.5 mm	2 teeth	320/28 µl*	40-0708-PD

* volumes are calculated for a gel thickness of 5 mm

PerfectBlue™ Mini M

Item	Description			Cat. No.
Gel system Mini M	complete system for gels 9 x 11 cm (W x L)			40-0911
Casting chamber	Casting chamber for up to 3 gel trays			40-0911-CST
Gel tray	UV-transmissible gel tray and gaskets			40-0911-UVT
MultiCast Casting chamber	Casting chamber and 3 UV-transmissible gel trays			40-0911-MC
Gaskets	2 rubber gaskets for gel tray			40-0911-GK
Standard combs	1.5 mm	5 teeth	86 µl*	40-0911-5D
	1.5 mm	8 teeth	51 µl*	40-0911-8D
	1.5 mm	10 teeth	38 µl*	40-0911-10D
	1.5 mm	12 teeth	30 µl*	40-0911-12D
	1.5 mm	14 teeth	25 µl*	40-0911-14D
	1.0 mm	5 teeth	58 µl*	40-0911-5C
	1.0 mm	8 teeth	34 µl*	40-0911-8C
	1.0 mm	10 teeth	25 µl*	40-0911-10C
	1.0 mm	12 teeth	20 µl*	40-0911-12C
	1.0 mm	14 teeth	16 µl*	40-0911-14C
Microtiter combs	1.5 mm	9 teeth	40 µl*	40-0911-9D
	1.5 mm	18 teeth	16 µl*	40-0911-18D
	1.0 mm	9 teeth	27 µl*	40-0911-9C
	1.0 mm	18 teeth	11 µl*	40-0911-18C
Preparative comb	1.5 mm	2 teeth	439/28 µl*	40-0911-PD

* volumes are calculated for a gel thickness of 5 mm

PerfectBlue™ Mini L & Mini L 'Revolution'

The same accessories are used for both models, Mini L and Mini L 'Revolution'.

Item	Description			Cat. No.
Gel system Mini L	complete system for gels 12 x 14 cm (W x L)			40-1214
Gel system Mini L 'Revolution'	complete system for gels 12 x 14 cm (W x L)			40-1214R
Casing chamber	Casting chamber for up to 3 gel trays			40-1214-CST
Gel tray L4	UV-transmissible gel tray and gaskets, for up to 4 combs			40-1214-UVT
Gel tray L12	UV-transmissible gel tray and gaskets, for up to 12 combs			40-1214-UVT
MultiCast Casting chamber	Casting chamber and 3 UV-transmissible gel trays			40-1214-MC
Gaskets	2 rubber gaskets for gel tray			40-1214-GK
Wall comb	Wall comb for dividing up the gel tray			40-1214-WC
Standard combs	1.5 mm	8 teeth	70 µl*	40-1214-8D
	1.5 mm	16 teeth	30 µl*	40-1214-16D
	1.5 mm	20 teeth	22 µl*	40-1214-20D
	1.5 mm	24 teeth	17 µl*	40-1214-24D
	1.0 mm	8 teeth	47 µl*	40-1214-8C
	1.0 mm	16 teeth	20 µl*	40-1214-16C
	1.0 mm	20 teeth	15 µl*	40-1214-20C
	1.0 mm	24 teeth	11 µl*	40-1214-24C
Microtiter combs	1.5 mm	9 teeth	40 µl*	40-1214-9D
	1.5 mm	12 teeth	40 µl*	40-1214-12D
	1.5 mm	25 teeth	16 µl*	40-1214-25D
	1.0 mm	9 teeth	27 µl*	40-1214-9C
	1.0 mm	12 teeth	27 µl*	40-1214-12C
	1.0 mm	25 teeth	11 µl*	40-1214-25C
Preparative comb	1.5 mm	2 teeth	596/28 µl*	40-1214-PD

* Volumes are calculated for a gel thickness of 5 mm

JustCast adjustable casting chamber

For the simple, leak-proof casting of up to three Mini S gels, two Mini M gels, two Mini L gels, one Mini ExM gel or one Mini ExW gel.

Item	Description	Cat. No.
JustCast	Adjustable Casting Chamber for PerfectBlue™ Mini Gel Systems, including a 3-point leveling system with water level	40-CST

Power Supplies

Do not hesitate to contact us for advice on which Power Supply is most suitable for your application.

Item	Ports	max. Voltage (V)	max. Current (mA)	Power (W)	Cat. No.
EV222	3	200	200	20	55-EV222[1)]
E300	4	300	500	90	55-E300-230V[2)]
EV245	3	400	500	50	55-EV245[1)]
EV231	4	300	1000	150	55-EV231[1)]
EV265	4	600	500	150	55-EV265[1)]
E250	4	250	3000	300	55-E250-230V[2)]
EV202	4	300	2000	300	55-EV202[1)]
EV261	4	600	1000	300	55-EV261[1)]
EV215	4	1200	500	300	55-EV215[1)]
EV232	4	3000	150	150	55-EV232[1)]
EV233	4	3000	300	300	55-EV233[1)]
EV262	4	6000	150	300	55-EV262[1)]

[1)] Not available for customers in the US.
[2)] For a 110 V US version please replace '230V' with '110V' in the ordering number.

Agaroses[1)]

Item	Purpose	Amount	Cat. No.
peqGOLD Universal-Agarose	Suitable for standard applications. Separation range between 0.05 and 50 kb.	100 g 500 g 1000 g	35-1010 35-1020 35-1030
peqGOLD 'Low Melt'-Agarose	For the preparative separation of DNA fragments between 0.08 and 20 kbp.	25 g 100 g 250 g	35-2010 35-2020 35-2030
peqGOLD MoSieve-Agarose MS-500	Especially for high-resolution separation of small fragments (0.01 - 1 kbp).	25 g 100 g 250 g	35-3010 35-3020 35-3030
peqGOLD MoSieve-Agarose MS-1000	Especially for high-resolution separation of small fragments between 0.05 - 2 kbp.	25 g 100 g 250 g	35-4010 35-4020 35-4030
peqGOLD MegaBase-Agarose	Especially for separation of larger DNA fragments between 0.2 and 50 kbp.	25 g 100 g 250 g	35-5010 35-5020 35-5030

[1)] Not available for customers in the US.

LITERATURE

SAMBROOK J, FRITSCH E. F. AND MANIATIS T. (1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY.

FREDERIK M. AUSUBEL et al. (Ed.) Short Protocols in Molecular Biology, - A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology.

OGDEN R. AND ADAMS D. A. (1987) Electrophoresis in Agarose and Acrylamide Gels. Methods Enzymol. 152: 61-87.

FOTADOR U., SHAPIRO L. E. AND SURKS, M. I. (1991) Simultaneous Use of Standard and Low-Melting Agarose for the Separation and Isolation of DNA by Electrophoresis. Bio Techniques, 10 (2): 171-2.

BOOTS S. (1989) Gel Electrophoresis of DNA. Anal. Chem., 61 (8): 551a-553a.

INHALT

GARANTIE 16

LIEFERUMFANG 16

SICHERHEITSHINWEISE 16

SYSTEMÜBERBLICK 17

Technische Merkmale 17

ALLGEMEINE BEDIENUNGSHINWEISE 18

Vorbereitung des Systems und Gießen des Agarosegels 18
Beladen des Gels und Elektrophorese 19
Auswertung/Dokumentation 20
Reinigung 20

BENÖTIGTE MATERIALIEN & REZEPTE 21

Elektrophoresepuffer 21
Agarose: Gelvolumen und -Konzentration 22
Ethidiumbromid 22
Lade- oder Probenpuffer 23
Längenstandards 23

TROUBLESHOOTING 23

TECHNISCHER SERVICE & BESTELLINFORMATIONEN 25

PerfectBlue™ Mini S 25
PerfectBlue™ Mini M 25
PerfectBlue™ Mini L & Mini L 'Revolution' 26
Justierbare Gießschiene JustCast 26
Power Supplies 27
Agarosen 27

LITERATUR 28

GARANTIE

PEQLAB garantiert, dass das ausgelieferte System genauestens geprüft wurde und den geltenden Anforderungen entspricht.

Bitte überprüfen Sie die Lieferung dennoch umgehend nach Erhalt auf Vollständigkeit und eventuelle Transportschäden. Sollte die Lieferung beschädigt oder fehlerhaft sein, wenden Sie sich bitte umgehend an den Technischen Service von PEQLAB oder Ihren PEQLAB-Außendienstmitarbeiter (siehe 'TECHNISCHER SERVICE & BESTELLINFORMATIONEN'). Durch die Aufbewahrung des Verpackungsmaterials bis zur vollständigen Prüfung der Lieferung wird die Umwelt geschont und eine evtl. Rückholung beschleunigt. Alle Rücksendungen, Austauschlieferungen und Gutschriften müssen zuvor von PEQLAB freigegeben werden.

Auf sämtliche PerfectBlue™ Elektrophorese- und Blottingsysteme gewährt PEQLAB 36 Monate Garantie, sofern die Systeme ausschließlich der Bedienungsanleitung entsprechend verwendet wurden und keine anderslautende Vereinbarung besteht. Ansprüche auf Ersatz oder Reparatur, die aus einer fehlerhaften Verwendung entstanden sind, werden nicht erfüllt. Die PEQLAB GmbH verpflichtet sich zur Reparatur oder dem Ersatz des Gerätes bzw. der Rückerstattung des Kaufpreises nach ihren Bedingungen. PEQLAB haftet nicht für Folgeschäden, die aus der Verwendung des Systems entstanden sind. Nach Ablauf der Garantiezeit können defekte PerfectBlue™ Elektrophorese- oder Blotting-Systeme durch PEQLAB kostengünstig repariert werden.

Um Neuentwicklungen zeitnah einführen zu können, behält es sich PEQLAB vor, technische Details ohne Vorankündigung zu ändern.

LIEFERUMFANG

Sofern nicht anders vereinbart bzw. auf dem Lieferschein angegeben, enthält der Lieferumfang der Modelle Mini S, Mini M, Mini L und Mini L 'Revolution' folgende Komponenten:

- eine Pufferkammer mit korrosionsgeschützten Platinelektroden
- einen Sicherheitsdeckel mit fest angeschlossenen Stromkabeln
- einen UV-durchlässigen Gelträger mit stabilen Gummidichtungen
- Mini S: 2 Kämme, 1.5 mm dick, 6 und 10 Zähne
- Mini M: 2 Kämme, 1.5 mm dick, 10 und 14 Zähne
- Mini L ('Revolution'): 2 Kämme 1.5 mm dick, 12 und 20 Zähne
- eine Bedienungsanleitung

SICHERHEITSHINWEISE

- Bitte lesen Sie diese Bedienungsanleitung sorgfältig durch, bevor Sie das System in Betrieb nehmen.
- Verwenden Sie zur Stromversorgung eine CE-konforme Gleichstrom-Spannungsquelle.
- Trennen Sie das System von der Stromversorgung, bevor Sie den Sicherheitsdeckel entfernen.
- Trennen Sie das System bei Nichtbenutzung stets von der Stromversorgung.
- Die für das System definierte maximale Stromstärke und Spannung sollte nicht überschritten werden.
- Die Pufferkammer darf nicht über die maximale Fülllinie hinaus befüllt werden.
- Das Puffersteigrohr an der Unterseite der Gelkammer Mini L 'Revolution' darf nicht als 'Tragegriff' verwendet werden, da es entsprechender mechanischer Belastung auf Dauer nicht standhält.

SYSTEMÜBERBLICK

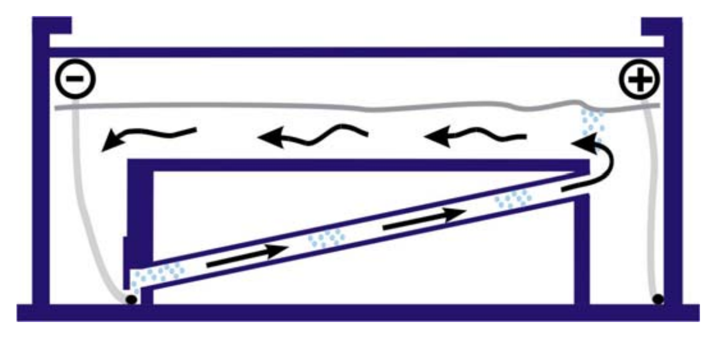
Bei den horizontalen Minigelkammern Mini S, M, L und Mini L 'Revolution' handelt es sich um 'All-in-one'-Systeme, bei denen die Gele in der Kammer ohne zusätzliche Abdichtmaterialien oder Vorrichtungen gegossen und verwendet werden können.

Alle PerfectBlue™ Horizontalen Minigelsysteme enthalten einen UV-durchlässigen Gelträger mit mindestens zwei Kammpositionen, die es dem Benutzer erlauben, mindestens 2 Probenreihen gleichzeitig laufen zu lassen. Das fluoreszierende Lineal auf dem Gelträger hilft später bei der präzisen Fotodokumentation des Gels.

PEQLAB bietet insgesamt 6 unterschiedliche PerfectBlue™ Minigelsysteme an. Zusätzlich zu den hier beschriebenen Minigelsystemen S, M, L und L 'Revolution' stehen die beiden Breitformatgelsysteme Mini ExM und Mini ExW zu Verfügung. Optional erhältliche Gießschienen oder MultiCast Gießstände ermöglichen das Gießen von bis zu 3 Gelen während die Kammer in Benutzung ist. Die justierbare Gießschiene JustCast ist darüber hinaus für das komfortable Abdichten sämtlicher Minigelträger geeignet. PEQLAB bietet eine Vielzahl von Standard- und Mikrotiterkämmen (nicht erhältlich für Mini S) in zwei verschiedenen Dicken (1 und 1.5 mm) an. Mikrotiterkämme erlauben das zeitsparende Beladen der Gele mit Mehrkanalpipetten. Für die größeren Gelsysteme (Mini L und Mini L 'Revolution') stehen zusätzlich einsetzbare Zwischenwände (Trennkämme) zur Verfügung, mit deren Hilfe bei Bedarf kürzere Gele gegossen werden können, um Agarose einzusparen.

Eine ausführliche Auflistung des zur Verfügung stehenden Zubehörs ist im Kapitel 'TECHNISCHER SERVICE & BESTELLINFORMATIONEN' zu finden.

Im Unterschied zu den übrigen Minigelkammern ist das Modell Mini L 'Revolution' mit einem System zur automatischen Pufferumwälzung ausgestattet. Seine Funktionsweise beruht darin, dass Wasserstoffbläschen, welche durch Elektrolyse an der Kathode entstehen, aufgefangen und durch ein aufsteigendes Rohr zur Anodenseite der Gelkammer geleitet werden. Durch den dabei mitgerissenen Puffer kommt es zu einer Pufferumwälzung, welche die Bildung von störenden pH-und Ionengradienten verhindert.



Schemazeichnung: 'Revolution'-Technologie

Technische Merkmale

PerfectBlue™	Bestell-Nr.	Gelgröße (B x L)	Puffervolumen	Spannung	Stromstärke	typ. Laufzeit
Mini S	40-0708	7 x 8 cm	400 ml	20 - 150 V	1 - 75 mA	30 - 60 min
Mini M	40-0911	9 x 11 cm	600 ml	20 - 150 V	1 - 75 mA	45 - 90 min
Mini L	40-1214	12 x 14 cm	800 ml	20 - 150 V	1 - 75 mA	60 - 120 min
Mini L 'Revolution'	40-1214R	12 x 14 cm	1000 ml	20 - 150 V	1 - 75 mA	60 - 240 min

ALLGEMEINE BEDIENUNGSHINWEISE

Vorbereitung des Systems und Gießen des Agarosegels

1. Entfernen Sie den Sicherheitsdeckel von der Gelkammer durch Festhalten der Pufferkammer mit der einen Hand und Ziehen an der Rückseite des Deckels mit der anderen Hand.

2. Der Gelträger ist für den Versand bereits in die Gelkammer eingesetzt und zwar in der 90 °-Position, welche auch beim Gießen der Gele Verwendung findet. Um den Gelträger aus der Kammer herauszunehmen, halten Sie die Pufferkammer mit einer Hand fest und ziehen den Gelträger langsam nach oben heraus. Abwechselndes Anheben der Seiten des Gelträgers unterstützt die Entnahme des Gelträgers. Bitte achten Sie darauf, den Gelträger dabei nur um seine Längsachse, nicht aber um seine Querachse zu verkanten. Letzteres kann aufgrund der mechanischen Beanspruchung auf Dauer zu Rissen an den Rinnen an den beiden Enden des Gelträgers führen.

3. Falls Sie den Gelträger aus der Pufferkammer entnommen oder in Laufrichtung gedreht hatten, setzen Sie ihn zum Gießen des Gels bitte um 90 ° von der Laufrichtung gedreht in die Gelkammer ein. Auf diese Weise werden die beiden offenen Enden des Gelträgers über die Gummidichtungen von den Gelkammerwänden abgedichtet. Wichtig ist, dass der Gelträger ganz nach unten gedrückt ist und gerade in der Kammer sitzt. In ähnlicher Weise können die Gelträger auch in externen Gießschienen abgedichtet werden. Ein vorheriges Anfeuchten der Gummidichtungen des Gelträgers erleichtert dessen Einsetzen in die Kammer. Bei der Verwendung der justierbaren Gießschiene JustCast kann auf die beiden Gummidichtungen des Gelträgers verzichtet werden.

   Optional: Mit dem für die Mini L und Mini L 'Revolution' erhältlichen Trennkamm kann der Gelträger unterteilt werden, um kürzere Gele zu gießen. Da der Trennkamm keine Gummidichtungen enthält, sollte er mit 2 %iger Agaroselösung abgedichtet werden, bevor das eigentliche Gel gegossen wird.

4. Für Gele sollten nur für Elektrophorese taugliche Agarosen und entsprechende Puffer benutzt werden. Das Gel kann auf verschiedene Arten angesetzt werden. Agaroseart und -Konzentration sowie der verwendete Puffer sind abhängig von Art und Länge der aufzutrennenden Nukleinsäuren sowie den geplanten Folgeanwendungen (siehe 'BENÖTIGTE MATERIALIEN & REZEPTE'). Die entsprechende Menge Agarose wird in den Puffer gegeben, gemischt und über einer Heizplatte unter Rühren erhitzt bzw. in der Mikrowelle aufgekocht, bis die Agarose komplett aufgelöst ist.

5. Um eine Verformung der Gelträger aufgrund zu hoher Temperaturen zu vermeiden, sollte die Gellösung auf 60 °C abgekühlt sein, bevor sie in den Gelträger gegossen wird. Werden an einem Tag zahlreiche Gele benötigt, kann eine größere Menge Gellösung angesetzt und in einem bedeckten Gefäß bei 60 °C im Wasserbad oder Wärmeschrank bis zur weiteren Verwendung aufbewahrt werden.

6. Unmittelbar nachdem eine entsprechende Menge (siehe 'Agarose: Gelvolumen und -Konzentration') der Agaroselösung möglichst luftblasenfrei in den Gelträger gegossen wurde, sollten der oder die Kämme eingesetzt werden. Gele aus handelsüblicher Standard-Agarose verfestigen sich bei Raumtemperatur innerhalb von ca. 30 Minuten. Sollten Sie 'Low-Melting'- oder andere Spezialagarosen verwenden, befolgen Sie bitte die jeweiligen Herstellerangaben.

Beladen des Gels und Elektrophorese

1. Sobald das Gel vollständig fest ist, kann der Gelträger für den Gellauf passend eingesetzt werden, d.h. wie oben beschrieben herausgenommen und um 90 ° versetzt wieder in die Pufferkammer eingesetzt werden, so dass die offenen Enden des Gelträgers zu den Pufferreservoiren gerichtet sind.

2. Füllen Sie nun so viel Elektrophoresepuffer in beide Pufferreservoire der Kammer bis das Gel komplett mit ca. 3 mm Puffer überschichtet ist; maximal aber bis zur Markierung 'Fill Line', die auf jeder Pufferkammer zu finden ist. Eine ungefähre Angabe der dazu benötigten Puffervolumina finden Sie unter 'SYSTEMÜBERBLICK/Technische Merkmale'. Zu wenig Puffer kann zum Austrocknen des Gels während des Laufs führen, wogegen zu viel Puffer eine verminderte Migrationsgeschwindigkeit, erhöhte Wärmeentwicklung und ein verzerrtes Bandenmuster zur Folge haben kann.

3. Entfernen Sie die Kämme vorsichtig aus dem Gel, ohne die Taschen zu beschädigen, indem Sie sie zum Lockern leicht hin- und herbewegen und dann gerade nach oben herausziehen.

4. Beladen Sie die Taschen nun mit den vorbereiteten Proben. Die Proben sollten mit einem entsprechenden Ladepuffer versetzt sein, damit sie gleichmäßig in die Taschen einsinken und der Fortschritt des Gellaufs verfolgt werden kann. Angaben zum ungefähren Taschenvolumen finden Sie unter 'TECHNISCHER SERVICE & BESTELLINFORMATIONEN'. Falls Mikrotiterkämme verwendet wurden, können die Taschen unter Verwendung einer Mehrkanalpipette beladen werden. Bis zu einer Zahnzahl von 26 können die Taschen der Minigel-Mikrotiterkämme 'direkt' beladen werden, d. h. die Pipettenspitzen passen fortlaufend in die Geltaschen.

   Anmerkung: Auf jedem Gel sollte eine Probe eines definierten Molmassen- bzw. Längenstandards aufgetragen werden, um eine Größen- und ggf. Konzentrationsbestimmung der zu analysierenden Probe zu ermöglichen.

5. Schieben Sie den Sicherheitsdeckel mit den angeschlossenen Stromkabeln seitlich bis zum Anschlag auf die Pufferkammer, wodurch es zu einem vollständig abgeschirmten elektrischen Kontakt zwischen den entsprechenden Anschlüssen des Kammerdeckels und der Pufferkammer kommt. Die Enden der Stromkabel (4 mm, male) werden nun an eine geeignete Gleichstrom-Spannungsquelle (Power Supply) angeschlossen.

   Bitte achten Sie dabei auf die richtige Polung. Zur Erinnerung: Nukleinsäuren sind in alkalischem bis neutralem Milieu negativ geladen und wandern zur Anode, der positiven Elektrode. Der allgemeine Farbcode für positiv geladene Elektroden ist ROT.

6. Schalten Sie den Power Supply an und führen Sie den Gellauf bei einer angemessenen elektrischen Spannung durch (siehe 'SYSTEMÜBERBLICK/Technische Merkmale'). Beobachten Sie den Fortschritt der Migration anhand der Farbstoffbande des Ladepuffers, um ein Herauslaufen der Proben aus dem Gel bzw. in ein anderes Probenfeld hinein zu vermeiden. Dabei ist zu berücksichtigen, dass in 0.5 x TBE-Gelen Bromphenolblau mit 300 bp DNA-Fragmenten und Xylencyanol in etwa mit 4 kbp DNA-Fragmenten komigriert.

Auswertung/Dokumentation

Zum Abbrechen der Elektrophorese sollte der Power Supply abgeschaltet und der Deckel der Gelkammer heruntergeschoben werden, um die Pufferkammer von der Spannungsquelle zu trennen. Erst dann darf der Gelträger aus der Pufferkammer gehoben werden. Sind Ethidiumbromid oder sonstige interkalierenden Farbstoffe im Gel oder Puffer enthalten, ist direkter Hautkontakt unbedingt zu vermeiden (Handschuhe!). Das Gel kann aufgrund der UV-Durchlässigkeit des Gelträgers auf einem UV-Tisch angesehen und evtl. fotografiert werden, ohne das Gel vom Gelträger herunternehmen zu müssen. Zum sicheren und bequemen Transport des Gels kann der Gelträger in eine Gießschiene eingesetzt werden.

Reinigung

Pufferkammer, Gelträger und Kämme sollten nach jeder Benutzung unter fließendem Wasser gereinigt werden. Zur Beseitigung von Rückständen kann außerdem ein mildes Reinigungsmittel verwendet werden. Ein anschließendes kurzes Abspülen mit destilliertem Wasser verhindert die Bildung von Salzflecken. Um die Platinelektroden nicht zu beschädigen, empfehlen wir die Kammer an der Luft trocknen zu lassen und nicht mit Papiertüchern trocken zu wischen.

Zur Reinigung von Acrylglas dürfen weder Ethanol noch sonstige organische Lösungsmittel verwendet werden, da sonst Risse und Sprünge im Material entstehen können!

BENÖTIGTE MATERIALIEN & REZEPTE

Elektrophoresepuffer

Im Allgemeinen müssen Elektrophoresepuffer die für die Elektrophorese nötigen Ionen bereitstellen und für einen konstanten pH-Wert sorgen, damit das Zielmolekül die gewünschte Nettoladung aufweist (Nukleinsäuren sind in alkalischem bis neutralem Milieu negativ geladen). Häufig enthalten sie außerdem Komponenten, welche das Zielmolekül vor Degradation schützen (z. B. EDTA, welches aufgrund der Komplexierung zweiwertiger Kationen u. a. DNasen inhibiert). Soll die Elektrophorese unter denaturierenden Bedingungen erfolgen (z. B. bei der Elektrophorese von RNA), enthalten Gel- und Laufpuffer darüber hinaus Substanzen, welche die Bildung von Sekundärstrukturen verhindern. Im Folgenden werden die beiden Elektrophoresepuffer TAE und TBE beschrieben, welche am häufigsten für die Elektrophorese von DNA unter nicht-denaturierenden Bedingungen verwendet werden. TAE-Puffer ist für präparative Gele zu empfehlen, d. h. wenn die DNA im Anschluss an die Elektrophorese aus dem Gel eluiert und weiterverwendet werden soll. Im Vergleich zu TBE sind mit TAE außerdem höhere Migrationsgeschwindigkeiten und eine bessere Auftrennung von supercoiled DNA zu erzielen. Aufgrund der deutlich geringeren Pufferkapazität von TAE ist für zeitlich ausgedehnte Elektrophoresen jedoch TBE zu empfehlen, sofern die Pufferkammer nicht über ein Pufferrezirkulationssystem verfügt (wie z. B. die PerfectBlue™ 'Revolution'-Systeme von PEQLAB), welches die Ausbildung eines pH-Gradienten (alkalische Anodenseite, saure Kathodenseite) verhindert. Da Agarose in TBE-Puffer außerdem feinere Poren und eine festere Matrix bildet, wird die vom elektrischen Feld unabhängige Diffusion der DNA verringert und eine höhere Bandenschärfe erzielt.

TAE (Tris-Acetat-EDTA) Puffer

1 x Arbeitslösung:	40 mM Tris-Acetat, 1 mM EDTA
50 x Stammlösung (1 l):	242 g Tris 57.1 ml Eisessig 100 ml 0.5 M EDTA (pH 8.0) mit H_2O auf 1 l auffüllen

TBE (Tris-Borat-EDTA) Puffer

0.5 x Arbeitslösung*:	45 mM Tris-Borat, 1 mM EDTA
5 x Stammlösung (1 l)**:	54 g Tris 27.5 g Borsäure 20 ml 0.5 M EDTA (pH 8.0) mit H_2O auf 1 l auffüllen

* Während für Agarosegele eine TBE-Konzentration von 0.5 x ausreicht, wird für vertikale Polyacrylamidelektrophorese häufig 1 x TBE eingesetzt, um den vergleichsweise kleineren Pufferreservoiren vertikaler Gelkammern Rechnung zu tragen.

** 5 x TBE-Stammlösungen können bei längerer Lagerung ausfallen. Sie sollten dann verworfen werden. Aufgrund dieser Eigenschaft ist das Ansetzen höher konzentrierter Stammlösungen nicht sinnvoll.

Agarose: Gelvolumen und -Konzentration

PEQLAB bietet eine Reihe hochwertiger Agarosen an, die für verschiedenste Anwendungen geeignet sind (siehe 'TECHNISCHER SERVICE & BESTELLINFORMATIONEN').

Das benötigte Gelvolumen errechnet sich nach folgender Formel:

Gelbreite (cm) x Gellänge (cm) x Geldicke (cm) = ml Agaroselösung

Abhängig von der Geldicke ergeben sich somit folgende Gelvolumina:

Modell	Gelgröße (cm)	Geldicke (cm)			
		0.25	0.5	0.75	1.0
PerfectBlue™ Mini S	7 x 8 (B x L)	14 ml	28 ml	42 ml	56 ml
PerfectBlue™ Mini M	9 x 11 (B x L)	25 ml	50 ml	75 ml	100 ml
PerfectBlue™ Mini L ('Revolution')	12 x 14 (B x L)	42 ml	84 ml	126 ml	168 ml

Je nach Agarosegehalt des Gels werden Moleküle unterschiedlicher Größenbereiche optimal aufgetrennt. Für besonders kleine Nukleinsäurefragmente werden hochprozentige Gele, für besonders große Fragmente niederprozentige Agarosegele verwendet. Für die in der folgenden Tabelle angegebenen größten bzw. kleinsten Fragmentlängen sollte allerdings die Verwendung einer Spezialagarose bzw. eines Polyacrylamidgels erwogen werden, da sich eine 3 %ige Agaroselösung extrem schnell verfestigt bzw. ein 0.3 %iges Agarosegel sehr brüchig ist.

Agarosegehalt (w/v)	Agarose (g)	Puffer (ml)	optimaler Auftrennungsbereich (kb)
0.3 %	0.3	100	5 - 30
0.5 %	0.5	100	1 - 15
0.7 %	0.7	100	0.8 - 10
1.0 %	1.0	100	0.5 - 7
1.2 %	1.2	100	0.3 - 6
1.5 %	1.5	100	0.2 - 4
2.0 %	2.0	100	0.1 - 3
3.0 %	3.0	100	< 0.1

Ethidiumbromid

Ethidiumbromid ist für den Nachweis von Nukleinsäuren in Gelen immer noch der am häufigst verwendete Fluoreszenzfarbstoff. Aufgrund seiner Eigenschaft, zwischen die Basen eines Nukleinsäurestranges zu interkalieren und somit dessen sterische Eigenschaft zu verändern, ist von einer stark mutagenen Wirkung auszugehen. Da es sowohl hydrophile als auch hydrophobe Eigenschaften besitzt, müssen für den Umgang mit Ethidiumbromid Maßnahmen getroffen werden, die sein Eindringen in lebende Hautschichten verhindern.
Zum Färben der Nukleinsäuren bereits während der Elektrophorese kann Ethidiumbromid der Gellösung vor dem Gießen zu einer Konzentration von 0.1 bis 0.5 µg/ml beigefügt werden. Aufgrund seiner positiven Ladung wandert es allerdings während der Elektrophorese zur Kathode (negative Elektrode), sozusagen 'der Nukleinsäure entgegen', wodurch sich ein inhomogener Hintergrund und eine ungleichmäßige Färbung unterschiedlich langer Nukleinsäuren ergeben. Homogenere Färbeergebnisse mit geringem Hintergrund lassen sich erzielen, wenn das Gel im Anschluss an die Elektrophorese in einer Färbewanne in Elektrophoresepuffer mit 0.5 µg/ml Ethidiumbromid für ca. 5 bis 20 min leicht wippend inkubiert und anschließend für ca. 5 bis 20 min in Elektrophoresepuffer entfärbt wird.

Lade- oder Probenpuffer

Die zu analysierenden Proben werden vor dem Auftragen auf das Gel mit einem geeigneten Ladepuffer vermischt. Ladepuffer enthalten Farbstoffe zur Sichtbarmachung des Migrationsfortschrittes sowie Glycerol o. Ä., damit die Proben schwerer als der Elektrophoresepuffer werden und in die Geltaschen sinken. Die verwendeten Farbstoffe sind wie die Nukleinsäuren negativ geladen und wandern wie diese zur Anode. Dabei komigriert Bromphenolblau in 0.5 x TBE-Gelen mit 300 bp DNA-Fragmenten und Xylencyanol in etwa mit 4 kbp DNA-Fragmenten.

6 x DNA-Ladepuffer: 0.25 % (w/v) Bromphenolblau
0.25 % (w/v) Xylencyanol FF
30 % (v/v) Glycerol

Längenstandards

Längenstandards oder 'Marker' werden auf jedem Gel aufgetragen, um die Auftrennung zu kontrollieren und um eine Größenbestimmung der Proben vornehmen zu können. Wird eine spezifische Konzentration eines bekannten Markers aufgetragen, kann auch die DNA-Menge einer Bande bestimmt werden. Größenmarker bestehen z. B. aus entsprechend verdauter Plasmid-DNA mit Fragmenten bekannter Größe. PEQLAB bietet eine Vielzahl an DNA- und RNA-Markern an. Informationen hierzu finden Sie in unserem aktuellen Produktkatalog oder unter www.peqlab.com.

TROUBLESHOOTING

Hier finden Sie passende Lösungen zu möglichen Problemen. Sollten Sie weitere Fragen haben, wird Ihnen das PEQLAB-Service-Team gerne weiterhelfen (TECHNISCHER SERVICE & BESTELLINFORMATIONEN).

Problem: Agarose läuft beim Gießen aus.
Überprüfen Sie den festen Sitz der Gummidichtungen um den Gelträger und dessen Sitz in der Gießschiene. Setzen Sie die Gummidichtungen nach eventueller Reinigung mit warmem Wasser erneut fest ein. Achten Sie dabei auf ein gleichmäßiges Einsetzen der Gummidichtungen in die Aussparungen des Gelträgers.

Problem: Bandenmuster ist verzerrt; Banden laufen nicht gerade ('Smiling Effekt').
Stellen Sie sicher, dass das Gel auf einer geraden Unterlage gegossen wird und der Gelträger eben in der Pufferkammer sitzt. Möglicherweise wird eine zu hohe Spannung verwendet. Verringern Sie die Spannung. Evtl. wurde der Elektrophoresepuffer falsch oder mit zu alten Chemikalien angesetzt. Evtl. wurde vergessen zum Ansetzen der Gellösung Elektrophoresepuffer zu verwenden. Evtl. wurde die konzentrierte Stammlösung des Elektrophoresepuffers zur Herstellung der Arbeitslösung nicht oder falsch verdünnt.

Problem: Proben laufen in bestimmten Bereichen des Gels ungleichmäßig.
Überprüfen Sie, ob die Platinelektroden intakt sind und über die gesamte Länge gleichmäßig Strom abgeben. Dies zeigt sich durch Blasenbildung an den Elektroden, bis zur Verbindung am Bananenstecker. Sollte eine Elektrode gerissen sein, kontaktieren Sie bitte umgehend das PEQLAB Service-Team. Evtl. wurden die Gele wiederholt mit zu heißer Agaroselösung (> 60 °C) gegossen. Die Gellösung sollte immer auf unter 60 °C abgekühlt werden, um den Gelträger nicht zu verformen und die Kammer nicht zu beschädigen. Ein verformter Gelträger führt zu ungleichmäßig gegossenen Gelen und daraus resultierender schlechter Auftrennung.

Problem: Proben zeigen kein scharf begrenztes Bandenmuster.
Evtl. hat sich die Gellösung vor Beginn der Elektrophorese nicht vollständig verfestigt. Handelsübliche Standardagarose ist nach ca. 30 Minuten bei RT vollständig erstarrt. Wird Low-Melting Agarose verwendet, sollte das Gel zum Festwerden bei niedrigeren Temperaturen gelagert werden, z.B. im Kühlschrank. Die Gele sollten mit 3 bis 5 mm Elektrophoresepuffer überschichtet sein. Zu viel Puffer (> 5 mm) führt jedoch zu einer verlangsamten Migration und evtl. zu überhöhter Erwärmung, wodurch ein verzerrtes Bandenmustern entstehen kann. Evtl. wurde eine zu große Menge Nukleinsäure pro Tasche aufgetragen, wodurch es zu einem 'Schmieren' der Banden kommen kann.

Problem: Proben verbleiben in den Taschen, laufen 'rückwärts' oder diffundieren aus dem Gel.
Prüfen Sie, ob der Stromkreis zwischen Gelkammer und Power Supply vollständig geschlossen ist. Die Platinelektroden und Bananenstecker sollten intakt sein. Sie können den Stromfluss überprüfen, indem Sie die Pufferkammer ohne Gel oder Gelträger mit Puffer füllen, den Deckel aufsetzen und an den Power Supply anschließen. Entlang der gesamten Elektrode sollten bei Stromfluss gleichmäßig Blasen aufsteigen. Ist der Stromkreis nicht vollständig geschlossen, erfolgt keine oder nur geringe Blasenbildung. Ist der Gelträger falsch herum eingesetzt oder stimmt die Polarität nicht, laufen die Proben in die andere Richtung und oben aus dem Gel heraus. Der Gelträger muss so in der Pufferkammer platziert werden, dass die Kammposition der negativ geladenen Kathode (schwarz) nächst gelegen ist.

Problem: Beim Entfernen des Kammes werden die Taschen beschädigt.
Das Gel sollte vor dem Entfernen des Kammes oder dem Bewegen der Gelkammer vollständig fest sein und mit Laufpuffer überschichtet sein. Um eine Beschädigung der Taschen zu verhindern, kann der Kamm durch vorsichtiges Hin- und Herbewegen gelöst und dann vorsichtig und gerade nach oben heraus gezogen werden. Diese Bewegung verhindert ein Festsaugen des Kammes in der Tasche. Um ein Hängenbleiben der Agarose an den Zähnen des Kammes zu vermeiden, sollten die Kämme vor jedem Gebrauch gründlich gereinigt werden.

Problem: Das Gel läuft bei üblicher Spannung auffallend langsam.
Beachten Sie, dass das Gel nur mit 3 bis 5 mm Laufpuffer bedeckt ist. Das Gel sollte komplett mit Puffer bedeckt sein, damit es nicht austrocknet und ein homogenes elektrisches Feld entstehen kann. Ein deutlich höheres Überschichten des Gels führt zu einer verminderten Migrationsgeschwindigkeit und erhöhtem Stromfluss/Wärmeentwicklung.

TECHNISCHER SERVICE & BESTELLINFORMATIONEN

Bei technischen Fragen kontaktieren Sie uns bitte unter +49 (0)9131 610 7020 oder per e-mail an info@peqlab.de. Ausführliche Informationen zu unseren Produkten finden Sie in unserem aktuellen Produktkatalog, den wir Ihnen auf Wunsch gerne zusenden oder unter www.peqlab.com.

PerfectBlue™ Mini S

Artikel	Beschreibung			Bestell-Nr.
Gelsystem Mini S	vollständiges System für Gele 7 x 8 cm (B x L)			40-0708
Gießschiene	Schiene für das Abdichten von bis zu 3 Gelträgern			40-0708-CST
Gelträger	UV-durchlässiger Gelträger mit Gummidichtungen			40-0708-UVT
MultiCast Gelgießstand	Gießschiene mit 3 UV-durchlässigen Gelträgern			40-0708-MC
Ersatzdichtungen	2 Gummidichtungen für Gelträger			40-0708-GK
Standardkämme	1.5 mm	5 Zähne	64 µl*	40-0708-5D
	1.5 mm	6 Zähne	51 µl*	40-0708-6D
	1.5 mm	8 Zähne	36 µl*	40-0708-8D
	1.5 mm	10 Zähne	26 µl*	40-0708-10D
	1.5 mm	12 Zähne	21 µl*	40-0708-12D
	1.0 mm	5 Zähne	42 µl*	40-0708-5C
	1.0 mm	6 Zähne	34 µl*	40-0708-6C
	1.0 mm	8 Zähne	24 µl*	40-0708-8C
	1.0 mm	10 Zähne	18 µl*	40-0708-10C
	1.0 mm	12 Zähne	14 µl*	40-0708-12C
Präparativer Kamm	1.5 mm	2 Zähne	320/28 µl*	40-0708-PD

* Taschenvolumen ist kalkuliert für eine Geldicke von 5 mm

PerfectBlue™ Mini M

Artikel	Beschreibung			Bestell-Nr.
Gelsystem Mini M	vollständiges System für Gele 9 x 11 cm (B x L)			40-0911
Gießschiene	Schiene für das Abdichten von bis zu 3 Gelträgern			40-0911-CST
Gelträger	UV-durchlässiger Gelträger mit Gummidichtungen			40-0911-UVT
MultiCast Gelgießstand	Gießschiene mit 3 UV-durchlässigen Gelträgern			40-0911-MC
Ersatzdichtungen	2 Gummidichtungen für Gelträger			40-0911-GK
Standardkämme	1.5 mm	5 Zähne	86 µl*	40-0911-5D
	1.5 mm	8 Zähne	51 µl*	40-0911-8D
	1.5 mm	10 Zähne	38 µl*	40-0911-10D
	1.5 mm	12 Zähne	30 µl*	40-0911-12D
	1.5 mm	14 Zähne	25 µl*	40-0911-14D
	1.0 mm	5 Zähne	58 µl*	40-0911-5C
	1.0 mm	8 Zähne	34 µl*	40-0911-8C
	1.0 mm	10 Zähne	25 µl*	40-0911-10C
	1.0 mm	12 Zähne	20 µl*	40-0911-12C
	1.0 mm	14 Zähne	16 µl*	40-0911-14C
Mikrotiterkämme	1.5 mm	9 Zähne	40 µl*	40-0911-9D
	1.5 mm	18 Zähne	16 µl*	40-0911-18D
	1.0 mm	9 Zähne	27 µl*	40-0911-9C
	1.0 mm	18 Zähne	11 µl*	40-0911-18C
Präparativer Kamm	1.5 mm	2 Zähne	439/28 µl*	40-0911-PD

* Taschenvolumen ist kalkuliert für eine Geldicke von 5 mm

PerfectBlue™ Mini L & Mini L 'Revolution'

Für die Gelkammern Mini L und Mini L 'Revolution' wird das identische Zubehör verwendet.

Artikel	Beschreibung			Bestell-Nr.
Gelsystem Mini L	vollständiges System für Gele 12 x 14 cm (B x L)			40-1214
Gelsystem Mini L 'Revolution'	vollständiges System für Gele 12 x 14 cm (B x L)			40-1214R
Gießschiene	Schiene für das Abdichten von bis zu 3 Gelträgern			40-1214-CST
Gelträger L4	Gelträger mit Gummidichtungen, für bis zu 4 Kämme			40-1214-UVT4
Gelträger L12	Gelträger mit Gummidichtungen, für bis zu 12 Kämme			40-1214-UVT12
MultiCast Gelgießstand	Gießschiene mit 3 UV-durchlässigen Gelträgern			40-1214-MC
Ersatzdichtungen	2 Gummidichtungen für Gelträger			40-1214-GK
Einsetzbare Zwischenwand	Trennkamm für Gele von geringerer Größe			40-1214-WC
Standardkämme	1.5 mm	8 Zähne	70 µl*	40-1214-8D
	1.5 mm	16 Zähne	30 µl*	40-1214-16D
	1.5 mm	20 Zähne	22 µl*	40-1214-20D
	1.5 mm	24 Zähne	17 µl*	40-1214-24D
	1.0 mm	8 Zähne	47 µl*	40-1214-8C
	1.0 mm	16 Zähne	20 µl*	40-1214-16C
	1.0 mm	20 Zähne	15 µl*	40-1214-20C
	1.0 mm	24 Zähne	11 µl*	40-1214-24C
Mikrotiterkämme	1.5 mm	9 Zähne	40 µl*	40-1214-9D
	1.5 mm	12 Zähne	40 µl*	40-1214-12D
	1.5 mm	25 Zähne	16 µl*	40-1214-25D
	1.0 mm	9 Zähne	27 µl*	40-1214-9C
	1.0 mm	12 Zähne	27 µl*	40-1214-12C
	1.0 mm	25 Zähne	11 µl*	40-1214-25C
Präparativer Kamm	1.5 mm	2 Zähne	596/28 µl*	40-1214-PD

* Taschenvolumen ist kalkuliert für eine Geldicke von 5 mm

Justierbare Gießschiene JustCast

Die flexible Alternative zur modellspezifischen Gießschiene. Für das Gießen von gleichzeitig bis zu 3 Mini S Gelen, 2 Mini M Gelen, 2 Mini L Gelen, 1 Mini ExM Gel oder 1 Mini ExW Gel.

Artikel	Beschreibung	Bestell-Nr.
JustCast	justierbare Gießschiene für PerfectBlue™ Minigelsysteme mit 3-Punkt-Nivellierungssystem und Wasserwaage	40-CST

Power Supplies

Bei Bedarf beraten wir Sie gerne, welcher Power Supply für Ihre Anwendung geeignet ist.

Artikel	Anschlusspaare	Max. Spannung (V)	Stromstärke (mA)	Leistung (W)	Bestell-Nr.
EV222	3	200	200	20	55-EV222[1)]
E300	4	300	500	90	55-E300-230V[2)]
EV245	3	400	500	50	55-EV245[1)]
EV231	4	300	1000	150	55-EV231[1)]
EV265	4	600	500	150	55-EV265[1)]
E250	4	250	3000	300	55-E250-230V[2)]
EV202	4	300	2000	300	55-EV202[1)]
EV261	4	600	1000	300	55-EV261[1)]
EV215	4	1200	500	300	55-EV215[1)]
EV232	4	3000	150	150	55-EV232[1)]
EV233	4	3000	300	300	55-EV233[1)]
EV262	4	6000	150	300	55-EV262[1)]

[1)] Nicht verfügbar für Kunden in den USA.
[2)] Für eine 110V US-Variante ersetzen Sie bitte '230V' mit '110V' in der Bestell-Nummer.

Agarosen[1)]

Artikel	Anwendung	Menge	Bestell-Nr.
peqGOLD Universalagarose	geeignet für Standard-Auftrennungen von Nukleinsäuren im Bereich von 0.05 – 50 kb	100 g 500 g 1000 g	35-1010 35-1020 35-1030
peqGOLD 'Low Melt'-Agarose	für präparative Gelelektrophoresen von DNA-Fragmenten im Bereich von 0.08 – 20 kbp	25 g 100 g 250 g	35-2010 35-2020 35-2030
peqGOLD MoSieve-Agarose MS-500	speziell für die hochauflösende Auftrennung von kleinen Nukleinsäuren im Bereich von 0.010 – 1.0 kb	25 g 100 g 250 g	35-3010 35-3020 35-3030
peqGOLD MoSieve-Agarose MS-1000	speziell für die hochauflösende Auftrennung von mittelgroßen Nukleinsäuren im Bereich von 0.050 – 2.0 kb	25 g 100 g 250 g	35-4010 35-4020 35-4030
peqGOLD MegaBase-Agarose	speziell für die Auftrennung von größeren DNA-Fragmenten im Bereich von 0.2 – 50 kbp	25 g 100 g 250 g	35-5010 35-5020 35-5030

[1)] Nicht verfügbar für Kunden in den USA.

LITERATUR

SAMBROOK J, FRITSCH E. F. AND MANIATIS T. (1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY.

FREDERIK M. AUSUBEL et al. (Ed.) Short Protocols in Molecular Biology, - A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology.

OGDEN R. AND ADAMS D. A. (1987) Electrophoresis in Agarose and Acrylamide Gels. Methods Enzymol. 152: 61-87.

FOTADOR U., SHAPIRO L. E. AND SURKS, M. I. (1991) Simultaneous Use of Standard and Low-Melting Agarose for the Separation and Isolation of DNA by Electrophoresis. Bio Techniques, 10 (2): 171-2.

BOOTS S. (1989) GEL ELECTROPHORESIS OF DNA. ANAL. CHEM., 61 (8): 551A-553A.



D **PEQLAB Biotechnologie GmbH,** 91052 Erlangen, Freecall (D): 0800 100 20 16, info@peqlab.de, www.peqlab.de
AT **PEQLAB Biotechnologie GmbH,** 6404 Polling, Tel: +43 (0) 5238 84 169, info@peqlab.at, www.peqlab.at
UK **PEQLAB Ltd.,** Southampton SO31 7ZN, Freephone (UK): 0808 202 1302, info@peqlab.co.uk, www.peqlab.co.uk
USA **PEQLAB LLC,** Wilmington, DE 19810, Toll-Free (US): 877 737 5220, info@peqlab.us, www.peqlab.us